



Disponible en ligne sur
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com

Revue française d'allergologie xxx (2015) xxx–xxx

REVUE FRANÇAISE
D'**Allergologie**

Tests unitaires ou multiplex en allergie

Single or multi-tests in allergy

J. Bienvenu^{a,*,b}, L. Garnier^a, F. Bienvenu^a

^a Laboratoire d'immunologie, centre hospitalier Lyon-Sud, 69495 Pierre-Bénite, France

^b Inserm U 1111, CIRI, 21, avenue Tony-Garnier, 69365 Lyon cedex 07, France

Reçu le 13 janvier 2015 ; accepté le 14 janvier 2015

Mots clés : Tests unitaires ; Multiplex ; Microarray ; Allergènes moléculaires

Keywords: Single tests; Multiplex; Microarray; Molecular allergens

Il existe un réel besoin de tests in vitro validés pour identifier des profils de sensibilisation avec expression clinique d'allergie afin de diminuer la nécessité de recourir à des tests de provocation.

Depuis 25 ans, le clonage d'allergènes moléculaires a ouvert l'ère de l'allergie moléculaire qui a permis d'analyser précisément le profil de sensibilisation d'un sujet et d'identifier les allergènes à l'origine d'une maladie allergique. Ainsi, a été introduit le concept de Component Resolved Diagnostics (CRD) proposé par R. Valenta [1]. Une grande évolution s'est donc produite dans le dosage des IgE spécifiques qui s'est traduite par le développement, à côté des extraits allergéniques « classiques » mal caractérisés, de réactifs à base d'allergènes parfaitement définis sur le plan moléculaire [2].

Dans un premier temps, les tests unitaires utilisant des allergènes recombinants ou purifiés ont été mis au point. À titre d'illustration, la société Thermofisher Scientific propose aujourd'hui une centaine de tests unitaires employant pour support une capsule de cellulose activée (CAP) sur laquelle est fixé un allergène moléculaire. La détermination d'un profil de sensibilisation nécessitera parfois la réalisation de nombreux tests unitaires, ceci parfois même pour une seule source allergénique pour laquelle plusieurs allergènes moléculaires seront analysés,

par exemple Hev b 1, Hev b 3, Hev b 5, Hev b 6 pour le latex ou Ara h 1, Ara h 2 et Ara h 3 pour l'arachide.

Il deviendra donc impossible sur un plan pratique chez un sujet polysensibilisé de tester tous les allergènes moléculaires en effectuant de multiples tests unitaires car la réalisation de toutes ces analyses devient rapidement coûteuse et nécessite des quantités de sérum importantes, facteur limitant en pédiatrie.

C'est pourquoi la technologie multiplex (microarray ou micropuce) a été appliquée à l'allergie pour permettre de rechercher simultanément les IgE dirigées contre de multiples allergènes moléculaires. En effet, les avancées des nanotechnologies qui seront développées dans cette session ont permis de déposer de manière très reproductible un grand nombre de protéines (et donc des allergènes protéiques) sur de très petites surfaces et en très faibles quantités (50 à 200 fg par unité de surface). Les difficultés techniques sont nombreuses : problèmes de sensibilité par rapport aux tests unitaires, difficulté d'optimiser l'immobilisation pour tous les allergènes, reproductibilité de lot à lot. La société Thermofisher Scientific commercialise depuis 2011 la puce ISAC (Immuno Solid phase Allergen Chip) qui permet la recherche d'IgE spécifiques dirigées contre 112 allergènes issus de 51 sources allergéniques sur 30 µL de sérum. D'autres techniques multiplex ont été développées spécifiquement dans le cadre d'études cliniques, comme la puce MeDALL (Mechanism for the Development of ALLergy) qui comporte 170 allergènes [3]. Des puces thématiques par famille d'allergènes sont également proposées (puce TLP par exemple).

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : jacques.bienvenu@chu-lyon.fr (J. Bienvenu).

Les 2 approches utilisant les tests unitaires ou les tests multiplex/microarray sont très différentes :

- sur le plan technique :
 - les tests unitaires présentent une meilleure sensibilité du fait de la fixation beaucoup plus importante d'allergène sur un support de cellulose (fixation de 1 à 2 µg d'allergène comparée à 100 fg sur un microarray), permettent d'obtenir des résultats quantitatifs adaptés au suivi dans le temps de la sensibilisation d'un sujet à un allergène, et sont encore indispensables quand il est nécessaire d'avoir recours à un extrait allergénique pour étudier une sensibilisation vis-à-vis d'une source allergénique dont certains allergènes (en particulier des allergènes mineurs) ne sont pas identifiés,
 - les tests unitaires présentent aussi des limites : s'ils doivent être multipliés, un test par microarray devient tout à fait justifié, certains allergènes n'existent pas en test unitaire, mais uniquement sur la puce ISAC comme l'allergène Ara h6 de l'arachide, certains allergènes du kiwi (Act d 1, Act d 2, Act d 5), de l'anisakis Ani s 1, ou de la blatte (Blag g 1, Blag g 2, Blag g 5);
- sur le plan clinique :
 - les tests unitaires ne répondent qu'à la question posée par l'allergologue qui ne trouvera donc que ce qu'il cherche ; les résultats fournis par les tests unitaires ne permettent pas d'ouvrir sur d'autres hypothèses diagnostiques comme peut le faire l'analyse par une technique multiplex. Il convient donc de bien cibler les indications pour lesquelles l'analyse des allergènes moléculaires en test unitaire suffira,
 - la technologie multiplex, en revanche, sera d'un grand apport dans les circonstances suivantes :
 - pour les patients polysensibilisés afin de faire un « état des lieux » à un instant donné et distinguer une

sensibilisation primaire d'une réaction croisée (intérêt du raisonnement par famille moléculaire), de découvrir des sensibilisations inattendues et donc de recentrer l'interrogatoire et de revoir la prise en charge,

- pour éliminer une allergie,
- pour des études épidémiologiques.

En résumé, le dernier mot doit rester au clinicien. Une prescription et une exploitation adaptées des tests unitaires et de leurs résultats lui permettra dans la majorité des situations une excellente prise en charge d'un patient allergique. Dans les cas plus complexes, la technologie multiplex lui sera indispensable pour déterminer la sensibilisation du sujet mais, en cas de négativité des résultats d'un microarray, il ne pourra pas conclure que le sujet n'est pas allergique. Dans ces cas difficiles, le dialogue clinico-biologique prend une importance primordiale.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Valenta R, Lindholm J, Niederberger V, Hayek B, Kraft D, Grönlund H. The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT). *Clin Exp Allergy* 1999;29: 896–904.
- [2] Bienvenu J, Rouzère P, Bienvenu F. Les allergènes moléculaires : évolution ou révolution dans le diagnostic de l'allergie. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* 2011;51:186–91.
- [3] Lupinek C, Wollmann E, Baar A, Banerjee S, Breiteneder H, Broecker B, et al. Advances in allergen-microarray technology for diagnosis and monitoring of allergy: the MeDALL allergen-chip. *Methods* 2014;66: 106–19.